

CT 210044

LES FONTES DE SEMIS DU COTONNIER EN COTE D'IVOIRE

I - Etude de produits fongicides au laboratoire

par

J. C. FOLLIN⁽¹⁾ et D. DIALLO⁽²⁾Laboratoire de Phytopathologie,
Station centrale de BOUAKÉ, Côte d'Ivoire.

RÉSUMÉ

Une méthode d'étude au laboratoire des produits fongicides à action endotherapique est décrite. Cette méthode comprend plusieurs phases : sur les organismes pathogènes *in vitro* [*Colletotrichum gossypii* South., *Rhizoctonia solani* Kuhn, *Pythium aphanidermatum* (Eds.) Fitz.]; sur les plantules poussant sur un milieu artificiel minéral contenant le fongicide à tester; sur sol infesté artificiellement. Parmi les huit produits testés dans l'étude présente, le Damosan, le Vitavax et le Benlate sont les plus intéressants.

INTRODUCTION

Le nombre toujours croissant de produits fongicides proposés à l'expérimentation, le nombre nécessairement limité des essais de désinfection de semences et les résultats parfois décevants de ces derniers dans les années sans fontes de semis nous ont amenés à rechercher au laboratoire une méthode d'étude préalable permettant d'éliminer les produits certainement inefficaces et de ne conserver que ceux pouvant être efficaces.

La méthode d'étude mise au point repose sur un screening en deux ou trois étapes suivant que le produit à tester est systémique ou non; dans le premier cas, la première étape consiste en une étude de l'efficacité du produit *in vitro* sur les principaux agents de la fonte de semis en Côte d'Ivoire : (*Colletotrichum gossypii* South, *Rhizoctonia solani* Kühn et *Pythium aphanidermatum* (Eds) Fitz.), ensuite en une étude de la germination de graines désinfectées dans de la terre infectée artificiellement; dans le second cas, une évaluation du pouvoir systémique par inoculation de plantules poussant en milieu nutritif artificiel contenant le produit à tester vient s'intercaler entre les deux expériences précédemment citées.

La réalisation de ces trois étapes dans le cas d'un fongicide systémique nécessite de 15 à 20 jours; on peut ainsi tester de nombreux produits pendant l'intercampagne et ne retenir ensuite pour l'expérimentation au champ que les produits ayant une chance de donner des résultats positifs.

(1) Chef de la Section de Phytopathologie.

(2) Stagiaire, en seconde année de spécialisation à l'O.R.S.T.O.M.

A — ÉTUDE *in vitro*

Matériel et méthodes

Pour *C. gossypii*, une suspension dense de spores est ajoutée à un milieu nutritif gélosé (bouillon de pomme de terre glucosé) maintenu en surfusion à 40°C puis coulé en boîte de Pétri de 120 mm; 4 graines de cotonnier délintées à l'acide sulfurique et désinfectées par le produit à tester sont déposées dans chaque boîte. Après 48 heures, les zones d'inhibition de croissance sont mesurées (fig. 1). Lorsqu'il n'y a eu aucune croissance, l'inhibition est comptée pour 50 mm.

Pour *R. solani*, on ajoute au même milieu une suspension de mycélium obtenu par un broyage ménagé d'un mycélium jeune (4 à 5 jours) croissant sur bouillon de pomme de terre glucosé.

Dans le cas de *P. aphanidermatum*, cette technique ne s'est pas révélée pratique; la méthode consiste alors à déposer sur du PDA coulé en boîte de Pétri 4 graines désinfectées, à repiquer le champignon 24 heures après au centre du carré formé par les 4 graines et à mesurer le diamètre de la colonie après 24 heures de croissance.

Cinq produits commercialisés ont été ainsi étudiés, ce sont :

Fongicides simples :

- L'Agrosan 5 W (produit organo-mercurique), PLANT PROTECTION LTD;
- Le Difolatan, CHEVRON CHEMICAL COMPANY.

Fongicides systémiques :

- Le Benlate (50 % de Benomyl), PECHINEY PRO-GYL;

- Le Demosan (65 % de Chloroneb), DUPONT DE NEMOURS ;
- Le Vitavax (50 % de Carboxine), LA QUINOLÉINE

et trois produits expérimentaux systémiques :

- A 3690 (acéto-hydroxy-quinoline sulfate), GEIGY ;
- NF 48 (thiophanate), PROCIDA ;
- BAS 3201, BASF.

Certains de ces produits ont été testés seuls et en association.

Les graines sont désinfectées avec de l'Agrosan 5W à la dose de 0,2 % et avec d'autres produits à la dose de 0,3 %.

Résultats

Les tableaux 1 et 2 donnent les résultats obtenus avec les principaux produits. Le fongicide expérimental A 3690 se présentant sous forme liquide a fait l'objet d'une étude spéciale (tableaux 3 et 4) avec 4 dilutions dans l'eau.

Tableau 1. — Diamètre en mm des zones d'inhibition provoquées par différents fongicides sur la croissance de *C. gossypii* et *R. solani*.

Produits	<i>C. gossypii</i>	<i>R. solani</i>
Agrosan 5 W	43,0	24,0
Difolatan	21,7	18,7
Benlate	32,6	32,4
Demosan	0	50,0
Vitavax	19,5	50,0
Agrosan + Benlate	43,6	34,1
Agrosan + Demosan	42,0	50,0
Agrosan + Vitavax	43,4	50,0
Difolatan + Benlate	33,1	33,4
Difolatan + Demosan	21,0	50,0
Difolatan + Vitavax	24,6	50,0
NF 48	34,1	17,5
BAS 3201	35,1	21,6
d.s. à P = 0,05	2,0	1,3
d.s. à P = 0,01	2,7	1,7

Tableau 2. — Diamètre en mm des zones d'inhibition provoquées par différentes solutions du fongicide systémique A 3690.

A 3690 Dilutions	<i>C. gossypii</i>	<i>R. solani</i>
1	46,2	50
10 ⁻¹	41,3	45,4
10 ⁻²	36,5	42,4
10 ⁻³	26,4	16,2
10 ⁻⁴	0	0
d.s. à P = 0,05	1,4	2,8
d.s. à P = 0,01	1,9	4,0

Tableau 3. — Diamètre, en mm, des colonies de *P. aphanidermatum* sous l'influence de divers fongicides.

Produits	Diamètre des colonies	% T
Témoin	57,8	100
Agrosan 5 W	35,0	60,5
Difolatan	37,4	64,7
Benlate	57,0	98,6
Demosan	17,2	29,7
Vitavax	52,6	91,0
Agrosan + Benlate	27,4	47,4
Agrosan + Demosan	7,4	12,8
Agrosan + Vitavax	32,4	56,0
Difolatan + Benlate	38,4	66,4
Difolatan + Demosan	16,0	27,6
Difolatan + Vitavax	39,4	68,1
NF 48	56,1	97,0
BAS 3201	57,0	98,6
d.s. à P = 0,05	1,7	4,8
d.s. à P = 0,01	2,2	6,3

Tableau 4. — Diamètre, en mm, des colonies de *P. aphanidermatum* sous l'influence du fongicide A 3690.

A 3690 Dilutions	Diamètre des colonies	% T
Témoin	48,0	100
1	0	0
10 ⁻¹	22,0	45,8
10 ⁻²	34,6	72,0
10 ⁻³	46,6	97,0
10 ⁻⁴	46,8	97,5
d.s. à P = 0,05	3,4	7,1
d.s. à P = 0,01	4,7	9,8

Discussion

Si on symbolise les efficacités de ces différents produits par les conventions suivantes :

- 0 : aucune efficacité
- +
- ++
- +++

on peut dresser le tableau 5 qui indique que les deux produits classiques Difolatan et Agrosan ont une efficacité parfois faible mais générale sur les 3 champignons étudiés. Parmi les fongicides systémiques, seul le produit expérimental A 3690 est efficace sur les 3 organismes ; le Demosan, le Benlate et le Vitavax sont très efficaces contre *R. solani* ; par contre, seul le Demosan a une action contre *P. aphanidermatum*.

Ces premiers résultats nous conduisent déjà à penser qu'aucun de ces produits (sauf A 3690) n'a un spectre d'action assez large pour être employé seul.

PLANCHE I

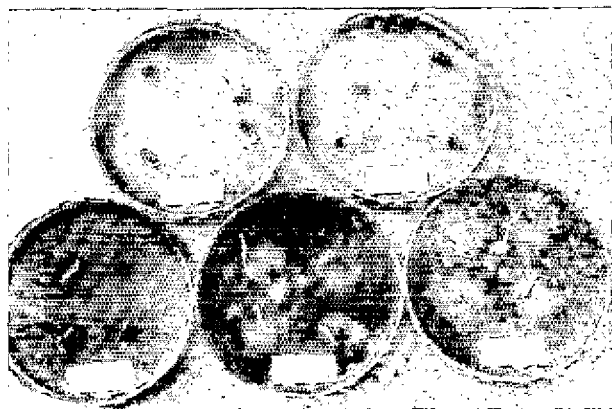


Fig. 1. — Zone d'inhibition de croissance provoquée par 5 fongicides sur *Colletotrichum gossypii*.



Fig. 2. — Plantules avant et quelques jours après l'inoculation par *Rhizoctonia solani*.

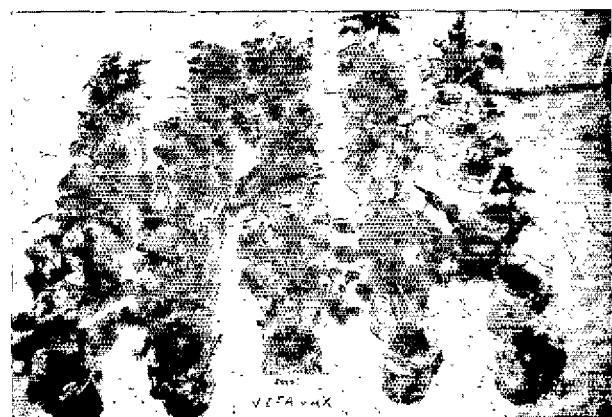


Fig. 3. — Vue d'ensemble de l'essai concernant le pouvoir systémique du Vitavax.

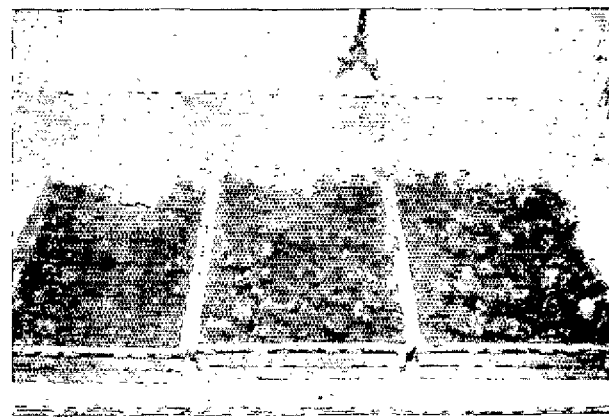


Fig. 4. — Levée sur terre infectée artificiellement par *Rhizoctonia solani*.

Enfin, il faut noter l'action de synergie sur *P. aphanidermatum* exercée par le Demosan, le Benlate, et le Vitavax employés en mélange avec l'Agrosan 5 W (chiffres en italique du tableau 3).

Tableau 5. — Efficacité des différents produits étudiés sur *C. gossypii*, *R. solani* et *P. aphanidermatum*.

Produits	<i>C. gossypii</i>	<i>R. solani</i>	<i>P. aphanidermatum</i>
Agrosan 5 W	+++	++	++
Difolatan	+	+	++
Benlate	++	++	0
Demosan	0	+++	+++
Vitavax	+	+++	0 à +
A 3690	+++	+++	+++
NF 48	++	+	0
BAS 3201	++	+	0

B — ÉTUDE DU POUVOIR SYSTÉMIQUE

Matériel et méthodes

Le dispositif employé consiste à séparer d'une

part l'inoculum, d'autre part le milieu de croissance du cotonnier et le fongicide à tester. Le milieu de croissance est un milieu minéral gélosé (a) où est inclus le fongicide à tester coulé à raison de 80 ml par becher de 100 ml puis recouvert d'une feuille de polyéthylène attachée sur les bords du becher par un ruban adhésif; la feuille est ensuite percée de 6 trous où sont insérées les radicules de graines mises à germer 36 heures entre deux couches de coton hydrophile imbibé d'eau stérile. Après deux jours de croissance, chaque plantule est inoculée par un cube d'une culture jeune (milieu PDA) du champignon à tester déposé près de la base, les inoculums sont ensuite recouverts de sable stérile maintenu humide pendant toute la durée de l'expérience (fig. 2 et 3).

Les résultats sont lus 8 à 10 jours après l'inoculation et on compte les plantules mortes, nécrosées, et saines; on calcule alors un indice d'attaque :

$$I_A = \frac{\text{plantules mortes} \times 100 + \text{plantules nécrosées} \times 50}{\text{nombre total de plantules} \times 100}$$

qui représente l'intensité de l'infection.

Pour chaque produit testé, 4 concentrations sont utilisées : 300, 150, 75 et 25 ppm de matière active; 6 répétitions sont réalisées par objet. Le champignon test est *R. solani*, seul organisme à attaquer les plantules âgées dans les conditions naturelles.

Tableau 6. — Action des différents fongicides systémiques sur l'inoculation artificielle de plantules de cotonnier par *R. Solani*.

Produits	% pl. saines	% pl. nécrosées	% pl. mortes	I_A	Produits	% pl. saines	% pl. nécrosées	% pl. mortes	I_A
Benlate					A 3690				
Témoin	0	10,0	90,0	95,0	Témoin	0	36,0	64,0	82,0
25 ppm	22,8	77,2	0	38,6	25 ppm	0	76,9	23,1	65,5
75 ppm	57,7	42,3	0	21,1	75 ppm	0	30,4	69,6	84,8
150 ppm	60,9	39,1	0	19,5	150 ppm	0	66,7	33,3	66,6
300 ppm	64,0	36,0	0	18,0	300 ppm	0	0	0	—
Demosan					NF 48				
Témoin	0	26,5	73,5	86,7	Témoin	0	20,8	79,2	89,6
25 ppm	66,7	24,2	9,1	21,2	25 ppm	0	91,7	8,3	54,1
75 ppm	90,3	9,7	0	4,8	75 ppm	0	95,7	4,3	52,1
150 ppm	94,1	5,9	0	2,9	150 ppm	0	100	0	50,0
300 ppm	100	0	0	0	300 ppm	25,0	75,0	0	37,5
Vitavax					BAS 3210				
Témoin	0	19,2	80,8	90,4	Témoin	0	31,8	69,2	85,1
25 ppm	87,1	12,9	0	6,4	25 ppm	25,8	71,0	3,2	37,1
75 ppm	96,8	3,2	0	1,6	75 ppm	24,1	75,9	0	37,9
150 ppm	97,0	3,0	0	1,5	150 ppm	17,6	82,4	0	41,2
300 ppm	97,0	3,0	0	1,5	300 ppm	50,0	50,0	0	25,0

(a) Il s'agit de la solution de CRONE gélosée dont la composition est la suivante :

$K_2 H PO_4$: 1 g - KCl : 7 g - $CaSO_4$: 2,5 g - $Mg SO_4$: 7 H_2O : 2,5 g - $Ca_3 (PO_4)_2$: 0,5 g - $FePO_4$: 0,5 g - KNO_3 : 2 g ; les sels

sont mélangés dans un mortier, la solution est préparée en mettant 1,5 g de ce mélange dans 1 litre d'eau distillée, la gélose est ajoutée (8 g/litre) et le tout autoclavé (ROVIRA, 1956, *Plt and Soil*, 7, 178-217).

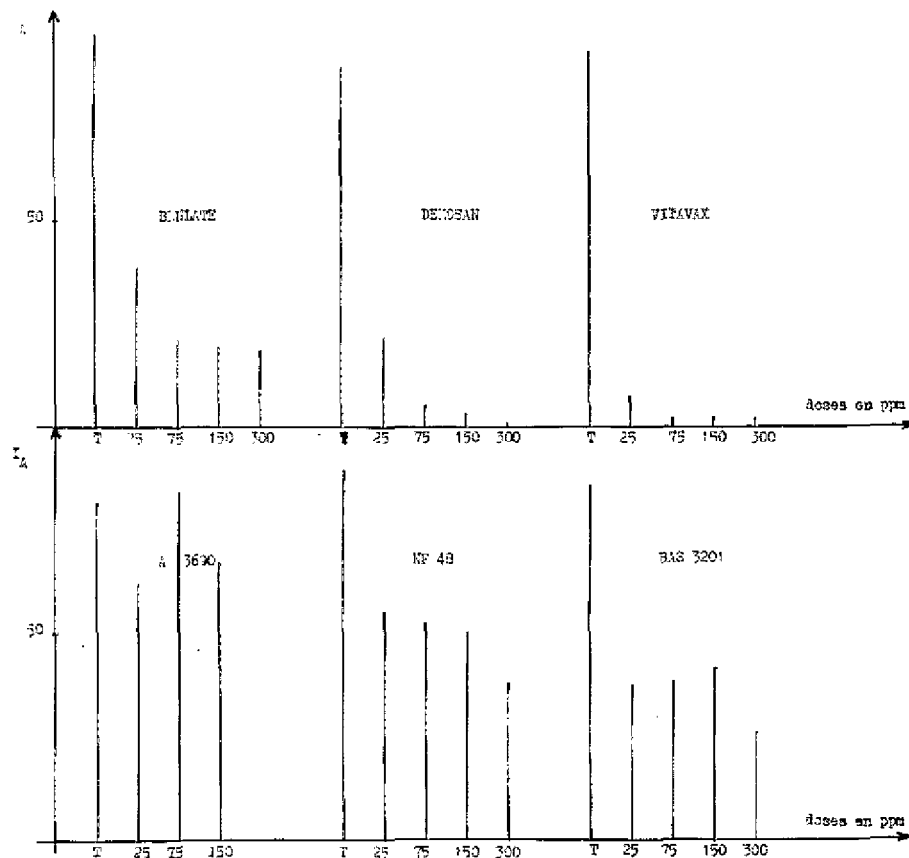


Fig. 5. — Indices d'attaque par *R. solani* sur plantules de cotonnier en fonction de différents fongicides systémiques utilisés.

Résultats

Le tableau 6 récapitule tous les résultats et la figure 5 représente les différents indices d'attaque calculés pour chaque produit et chaque concentration.

Les produits NF 48 et A 3690 sont rapidement phytotoxiques (tableau 7).

Le produit BAS 3201 est faiblement phytotoxique à la dose de 300 ppm.

Discussion

Les produits donnant les meilleurs résultats sont le Demosan et le Vitavax. Bien qu'inférieur, le Benlate a également un comportement excellent. Les produits expérimentaux BAS 3201 et NF 48 ont un comportement très moyen. Le produit A 3690 n'a, à peu près, aucune action.

Ces résultats correspondent exactement, sauf pour A 3690 qui est plus un toxique qu'un fongicide utilisable, aux résultats obtenus *in vitro* sur *R. solani* pour lequel les produits peuvent être classés en trois groupes, très efficaces : Demosan et Vitavax ; moyennement efficace : Benlate ; peu efficaces : BAS 3201 et NF 48.

Tableau 7. — Phytotoxicité des produits NF 48 et A 3690 traduite par la longueur en cm des plantules croissant sur un milieu artificiel contenant le fongicide.

Concentration	Longueur des plantules	
	NF 48	A 3690
Témoin	17,0	18,1
25 ppm	17,2	17,5
75 ppm	15,6	13,1
150 ppm	12,8	7,5
300 ppm	7,9	0

C — ÉTUDE EN TERRE INFECTÉE ARTIFICIELLEMENT

Matériel et méthodes

De la terre d'un champ de la Station est ramenée au laboratoire, stérilisée partiellement à 70 °C et mise en bacs de polypropylène (380 × 270 × 70 mm). La terre est alors inoculée avec une culture de *Rhizoctonia* ou *Pythium* sur un milieu maïs-sable fine-

ment broyé dans la proportion de 50 cc par bac. 150 graines délintées chimiquement et désinfectées sont semées par bac; 3 répétitions sont réalisées par produit; 7 jours après le semis les plantules saines et nécrosées sont comptées. Seuls les produits ayant montré une certaine efficacité dans les deux études précédentes sont expérimentés (fig. 4).

Résultats

Le tableau 8 donne les résultats obtenus avec Agrosan 5 W, Difolatan, Benlate, Demosan, Vitavax, NF 48 et BAS 3201; le produit A 3690 malgré les résultats obtenus dans la deuxième expérimentation a également été essayé et a confirmé son inefficacité quant à la désinfection des graines de cotonnier: aux fortes doses les graines n'ont pas germé, aux plus faibles (10^{-2} et 10^{-4}) les graines ont été détruites par le pathogène.

Discussion

Les résultats de germination en terre infectée ne sont pas en contradiction avec ceux des études précédentes.

Les produits ayant montré une bonne efficacité *in vitro* et parmi ces derniers ceux possédant une action systémique satisfaisante donnent les meilleurs résultats contre *R. solani*: ce sont le Benlate, le Demosan et le Vitavax; contre *P. aphanidermatum*: le Demosan. Il faut noter que le Difolatan, non systémique, a une action excellente contre les deux pathogènes, action supérieure à celle de l'Agrosan 5 W. Ce produit a toujours donné de bons résultats dans les essais de désinfection de semences et se confirme comme pouvant être un remplaçant éventuel des produits organo-mercuriques jusqu'ici seuls employés.

Les produits NF 48 et BAS 3201 médiocres *in vitro* et dans les études sur plantules poussant en milieu artificiel donnent également des résultats de levée médiocres.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Le regroupement des résultats des 3 étapes de cette méthode d'expérimentation permet de faire ressortir 4 produits dont l'efficacité a d'ailleurs déjà été démontrée: le Difolatan, le Benlate, le Demosan et le Vitavax. Il faut cependant faire une réserve pour les 3 systémiques, en ce sens que leur spectre d'action est dans chaque cas limité et que ces produits ne peuvent pas être employés seuls mais en mélange avec un fongicide classique: Agrosan 5 W ou Difolatan par exemple; cette idée d'association prend d'ailleurs plus de force si, en plus de l'élargissement du spectre d'action, on se réfère à l'effet de synergie contre *Pythium* des mélanges Agrosan + Benlate, Agrosan + Demosan et dans une moindre mesure Agrosan + Vitavax.

L'étape suivante est celle des essais aux champs pour lesquels ne seront retenus que les produits ayant montré une certaine efficacité dans les tests au laboratoire, puis celle d'une éventuelle vulgarisation et il se pose alors un problème de rentabilité, d'une part parce que les produits systémiques sont chers, d'autre part, parce qu'il est inutile d'introduire ces produits dans les zones où il n'y a pas de fontes de semis causées par *R. solani*; c'est ainsi que nous avons été amenés à réaliser une prospection systématique en Côte d'Ivoire pour essayer de déterminer une relation possible entre les origines des fontes de semis et les zones géographiques, tout d'abord dans le but d'implanter des essais dans des zones assurant un maximum de chance d'avoir des fontes de semis, ensuite dans un

Tableau 8 — Germination des graines de cotonnier désinfectées par différents produits, semées en terre infectée artificiellement par *R. solani* ou *P. aphanidermatum*.

Produits	Doses %	<i>R. solani</i>			<i>P. aphanidermatum</i>		
		% pl. saines	% pl. nécrosées	% de germination	% pl. saines	% pl. nécrosées	% de germination
Témoin 1		0	0,3	0,3	0	19,3	19,3
Agrosan 5 W	0,2	0	24,3	24,3	0	49,3	49,3
Difolatan	0,3	0	54,7	54,7	0	76,3	76,3
Benlate	0,3	0	60,0	60,0	0	26,0	26,0
Demosan	0,3	0,7	53,3	54,0	0	56,7	56,7
Vitavax	0,3	0	49,7	49,0	0	32,0	32,0
Témoin 2		0	1,0	1,0			
NF 48	0,2	0	7,3	7,3			
NF 48	0,3	0	19,3	19,3			
NF 48	0,4	0	21,3	21,3			
BAS 3201	0,2	0	9,6	9,6			
BAS 3201	0,3	0	10,0	10,0			
BAS 3201	0,4	0	18,6	18,6			

but plus lointain qui serait celui de la possibilité d'une désinfection différentielle suivant les régions; cette prospection et les résultats des essais de désinfection de semences feront l'objet de notes ultérieures.

SUMMARY

A method of study of systemic fungicide products at the laboratory is described. This method comprises several stages : on pathogenic organisms in vitro (Colletotrichum gossypii South, Rhizoctonia solani Kuhn, Pythium aphanidermatum (Eds.) Fitz.), on seedlings grown on artificial mineral medium, containing the fungicide to be tested, on artificially infected soil. The final aim is to keep only the most effective products for field experimentation.

In the present study, among 8 products tested, 3 offer the greatest interest, these are Demosan, Vitavax and Benlate.

RESUMEN

Se describe un método de estudio en laboratorio de los productos fungicidas a acción endoterápica. Este método comprende varias fases : sobre los organismos patógenos in vitro (Colletotrichum gossypii South., Rhizoctonia solani Kuhn, Pythium aphanidermatum (Eds.) (Fitz.); sobre las plántulas creciendo en un medio artificial mineral que contiene el fungicida a ensayar; sobre suelo infectado artificialmente. Entre los ocho productos ensayados en el estudio presente, los más interesantes son : el Demosan, el Vitavax y el Benlate.